Aus dem Gerichtlich-medizinischen Institut der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. J. Im Obersteg
Arbeit unter Leitung von Herrn Dr. phil. J. Bäumler

Dünnschichtchromatographie der forensisch wichtigen Metalle

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Peter Künzi

von Basel und Wattenwil (BE)

1962.

Basel 1962 · Buchdruckerei Gasser & Cie AG

Aus dem Gerichtlich-medizinischen Institut der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. J. Im Obersteg
Arbeit unter Leitung von Herrn Dr. phil. J. Bäumler

Dünnschichtchromatographie der forensisch wichtigen Metalle

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Peter Künzi

von Basel und Wattenwil (BE)

Basel 1962 · Buchdruckerei Gasser & Cie AG

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Von der medizinischen Fakultät genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. med. J. Im Obersteg

Tag der Promotion: 30. Mai 1962

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung und Problemstellung 5

II. Dünnschichtchromatographie 7

III. Fließmittelsysteme: 8

a) Zusatz von Komplexbildnern 8
b) Lösungsmittel 10

IV. Sichtbarmachung und Empfindlichkeit der Methode 15

V. Quantitative Auswertung 15

VI. Anwendung im praktischen Untersuchungsfall: 16

a) Nachweis von Arsen und Cadmium in Tee . . 16
b) Nachweis von Arsen in Mehl 17
c) Bestimmung von Quecksilber in Urin 17
d) Bestimmung von Thallium in Blut 18
e) Bestimmung von Blei in der Leber 19

VII. Methodik: 19

a) Reinigung des Kieselgels 19
b) Herstellung der Dünnschichtplatten 20
c) Auftragen der Testsubstanzen und Entwicklung 20
d) Sichtbarmachung 20
e) Vorbereitung des Untersuchungsmaterials . . 21

VIII. Zusammenfassung 21

IX. Literatur 23

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0087

Dünnschichtchromatographie der forensisch wichtigen Metalle

I. Einleitung und Problemstellung

Unter den Schwermetallen gelten heute Eisen, Kupfer, Mangan, Kobalt und Zink für den Menschen als gesicherte Bioelemente, deren Stellung in Fermentsystemen und Überträgersubstanzen z.T. weitgehend abgeklärt ist. Von diesen biologisch wichtigen Schwermetallen kommt vor allem dem Kupfer, gelegentlich auch Eisen, Mangan und Zink, Bedeutung zu. Daneben werden in diesen Zusammenhang im folgenden die Elemente Arsen, Cadmium, Antimon, Quecksilber, Thallium, Blei und Wismut einbezogen.

Über den Wirkungsmechanismus der Schwermetalle finden sich erste Anhaltspunkte bei den Arbeiten Ehrlichs über synthetische Arsenverbindungen in ihrer Molekülabhängigkeit zur Giftwirkung. Er stellte dabei die Hypothese auf, daß Arsen durch Blockierung von Sulfhydrilgruppen im Enzymeiweiß toxisch wirke. Dieser Mechanismus, am Anfang des Jahrhunderts vermutet, wurde später eingehender belegt (Voegtlin, 1923) und gilt heute erweitert für die meisten toxisch wirkenden Schwermetalle, im besonderen aber für die «forensischen Metalle», als der entscheidende Effekt. Die Blockierung der SH-Gruppe, ein primär reversibler Vorgang, kann seit der Entdeckung der Dimerkaprolwirkung (BAL) durch Peters, Stokken und Thompson (1945) kompetitiv gehemmt werden, wobei der Metall-Dimerkaprolkomplex durch die Nieren eliminiert wird. Die Fermentinaktivierung tritt vor allem im Tricarbonsäurezyklus zutage und hemmt so die energieabhängigen, stoffwechselintensiven Vorgänge prinzipiell jeder Zelle, wobei die klinische Symptomatologie nach Sukzession und Ausprägung in den verschiedenen Organsystemen (Magen-Darmtrakt, Gefäßsystem, Leber und Niere, ZNS und periphere Nerven) sich gut mit der ursächlichen Mitochondrienvergiftung in Zusammenhang bringen läßt.

In einer gewisse Sonnderstellung unter den forensischen Metallen befindet sich das Blei, dessen Vergiftungserscheinungen wohl durch Calcium-Tetracemin (Aethylendiamintetraessigsäure), kaum aber durch BAL beeinflußt werden (Bessman und Mitarb., 1952).

Quecksilber und Arsen, gefolgt von Thallium und Blei, gelten als die giftigsten unter den forensischen Metallen. Die tödliche Einzeldosis hängt wesentlich von der vorliegenden Einnahmeform als Ion, Komplex, metallorganische Verbindung oder Kolloid ab, da hiermit, zusammen mit der konstitutionell bedingten Komponente, Geschwindigkeit und Ausmaß der Resorption festgelegt werden.

Im ungünstigsten Falle treten Todesfälle schon bei Mengen um 0,1 Gramm effektiv resorbierter Substanz auf, so beim Sublimat und bei Arsenik. Für die andern praktisch in Betracht kommenden Substanzen bewegt sich die akut tödliche Einzeldosis in der Größenordnung von einigen Grammen.

Große Bedeutung kommt der Gefahr chronischer Vergiftungen zu, da sich die Elimination der Schwermetalle bedeutend langsamer vollzieht als deren Resorption und folglich bei langdauernder Aufnahme von Metallspuren der Kumulationseffekt ausgeprägt hervortritt. Hier können Analysen bei gewerblichen Vergiftungen nötig werden, etwa beim Blei im Druckereigewerbe, bei Malern oder Arbeitern in Akkumulatorenfabriken, um nur ein typisches Beispiel zu nennen. Auch Lebensmittelproben oder Gebrauchsartikel können in verschiedenartigen Streitfällen Gegenstand einer Untersuchung auf Schwermetallspuren sein.

Zur Analyse bei Vergiftungsfällen, sei es im Rahmen der beruflichen Tätigkeit, sei es in suicidaler oder homicidaler Absicht, werden Mageninhalt, Blut oder Urin untersucht, bei Todesfällen kommen zusätzlich Organproben in Frage (Niere, Leber u. a.).

Problemstellung

Die Mikrobestimmungsmethoden für je ein bestimmtes Schwermetall bedingen einen großen Arbeits- und Zeitaufwand und erlauben es nicht, bei einer Vielzahl von in Betracht fallenden Giftmetallen, primär gezielt vorzugehen. Deshalb ist eine

qualitative Vorprobe erwünscht, die es ermöglicht, in *einem Arbeitsgang* ein Substanzgemisch auf alle fraglichen forensischen Metalle zu prüfen und gegebenenfalls sekundär eine quantitative Mikrobestimmung anzuschließen. Von den bisher zur Verfügung stehenden Methoden ist in erster Linie die Papierchromatographie zu nennen. Versuche zur papierchromatographischen Trennung der forensischen Metalle beschreiben Pfeil und Goldbach (1955). An zweiter Stelle ist das Dithizonreagens (Fischer, 1925; Iwantscheff, 1956) zu erwähnen, das mit den forensischen Metallen farbige Komplexverbindungen bildet. Es ist aber, allein verwendet, zu unspezifisch und setzt einen geübten Spezialisten voraus. Polarographische Methoden sind für qualitative Analysen bisher wenig bearbeitet worden, und es bestehen erst gute Vorschriften für die quantitative Bestimmung einzelner Schwermetalle (z.B. Weinig, 1955).

Wir haben uns daher in der vorliegenden Arbeit die Aufgabe gestellt, die Verwendbarkeit der Dünnschichtchromatographie für Nachweis, Bestimmung und Trennung der forensisch wichtigen Metalle zu prüfen.

II. Dünnschichtchromatographie

Die von Stahl (1958) in die organisch-chemische Analyse eingeführte Dünnschichtchromatographie hat in den letzten zwei Jahren allgemeine Verbreitung gefunden und ist der Papierchromatographie ebenbürtig, z.T. sogar überlegen. Ihre Vorteile bestehen in kurzen Laufzeiten und einer gesteigerten Nachweisempfindlichkeit für viele organische Substanzen. Es war deshalb naheliegend, die Anwendbarkeit der Dünnschichtchromatographie auch für die anorganisch-chemische Analyse zu prüfen. Bei den Versuchen von Seiler (1960) über die Elemente der Schwefelwasserstoffgruppe traten zuerst, wie auch in eigenen Vorversuchen, Schwierigkeiten auf. Das als stabile Phase verwendete Kieselgel löste sich bei Verwendung des von der Papierchromatographie her bekannten Fließmittelgemisches Salzsäure-Butanol teilweise auf. Infolge hohen Eisen- und Zinkgehaltes des im Handel erhältlichen Silicagels, erfolgte unter Wasserstoff-

entwicklung und Bildung der Metallchloride die Ablösung der Adsorptionsschicht im untersten Teil der Trägerplatte. Die Qualität der Chromatogramme wurde dadurch stark beeinträchtigt, und zudem verringerten und beeinflußten die zwangsläufig mitwandernden Ballastmetalle die Nachweisempfindlichkeit für die Analysensubstanzen. Eine Reinigung des Kieselgels wie sie von Seiler (1960) vorgeschlagen wurde, erwies sich deshalb als notwendig. Zum käuflichen Silicagel wurde Salzsäure gegeben, wobei die Eisen- und Zink-Ionen in die überstehende Lösung gingen, die durch Dekantieren und Abnutschen vom Gel getrennt wurde. Durch ein anschließendes Trocknungsverfahren wurde ein feinpulveriges Ausgangsmaterial zur Herstellung der Analysenplatten erhalten (s. VII. Methodik).

Vorversuche mit Aluminiumoxid als Schichtmaterial zeigten ein wenig befriedigendes Ergebnis: bei gleichem Fließmittelgemisch war die Laufzeit 3–4 mal länger als mit Kieselgel, und die Rf-Werte lagen für alle beobachteten Metallionen – mit Ausnahme des Quecksilbers – unter 0,2.

Bei den Versuchen Seilers liegen die Elemente der Schwefelwasserstoffgruppe als Chloride vor, bei den forensischen Analysen sind die Metalle nach der Veraschung des biologischen Ausgangsmaterials mit Salpetersäure dagegen als Nitrate vorhanden. Es war bei der Ermittlung und Wahl eines geeigneten Fließmittelsystems darauf zu achten, neben einer kurzen Laufzeit, auch für die, gegenüber den Versuchen von Seiler neu hinzukommenden Elemente Arsen, Thallium und Antimon, von Null verschiedene Rf-Werte zu erhalten und eine eindeutige Unterscheidung der praktisch im Vordergrund stehenden Elemente Arsen, Quecksilber, Thallium und Blei anhand des Laufwertes anzustreben.

III. Fließmittelsysteme

a) Zusatz von Komplexbildnern

Da bei hohem Wassergehalt der Fließmittel die aufgetragene Dünnschicht von der Glasplatte abgelöst wird, ist man gezwungen, in erster Linie organische Lösungsmittel zu verwenden. So

erreicht man Laufzeiten, die wesentlich kürzer sind als diejenigen entsprechender Papierchromatogramme; dagegen lösen sich Schwermetalle nur in beschränktem Maße in den relativ unpolaren Fließmitteln und neigen zur Bildung von langgezogenen Flecken (Schwänzen). Aus diesem Grund wurde der Einfluß der nachfolgenden Komplexbildner getestet, die einerseits gewisse Ionen überhaupt erst zum Wandern bringen, (Thallium, Blei, vgl. Abb. 1), andererseits die Schwänze zum Teil erheblich verkürzen. Unter den geprüften Komplexbildnern befanden sich

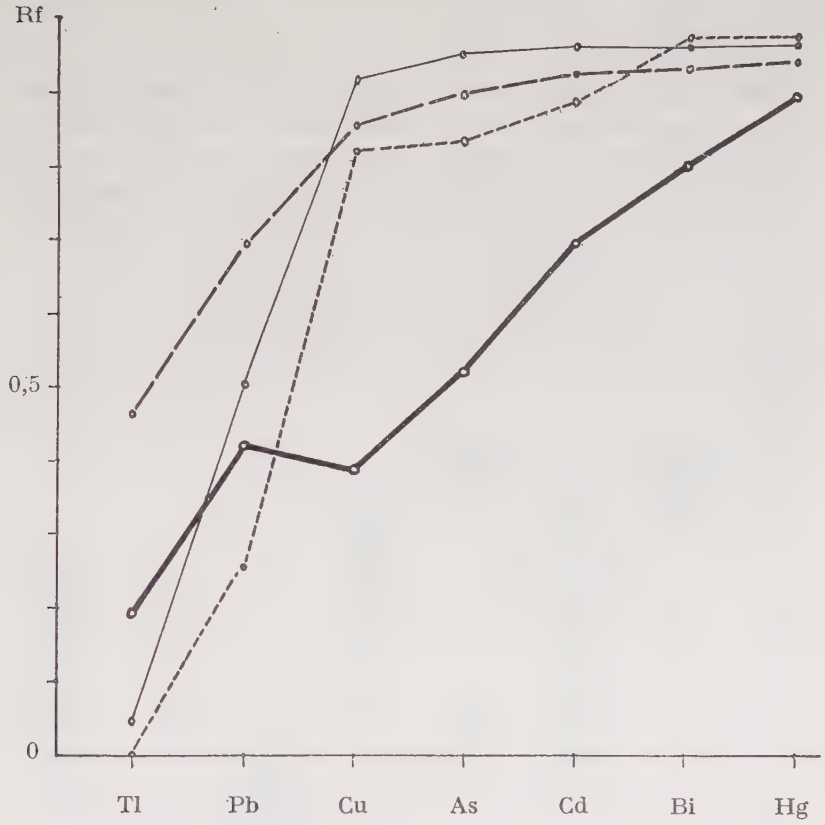

Abbildung 1. Einfluß der Komplexbildner auf die Steighöhe

— — — *Sulfosalizylsäure*/Aceton/Salpetersäure
– – – – *Veronal*/Aceton/Salpetersäure
——— *Acetonylaceton*/Aceton/Salzsäure
━━━ *Weinsäure*/*Aceton*/*Benzol*/*Salpetersäure*, das definitiv gewählte Gemisch zum Vergleich

Acetonylaceton, Veronal, Komplexon II, Antipyrin, Sulfosalizylsäure und Weinsäure. Mit diesen Komplexbildnern können die Chromatogramme zwar verbessert werden, doch zeigte sich die Tendenz vieler forensischer Metalle, mit starken Komplexbildnern zusammen beinahe mit der Fließmittelfront zu wandern.

In Abbildung 1 wird das Verhalten der forensischen Metalle bei Verwendung verschiedener Komplexbildner und Aceton als Fließmittel, im Vergleich zum definitiv gewählten Aceton-Benzolgemisch mit Weinsäure als Komplexbildner, graphisch festgehalten.

b) Lösungsmittel

Von den einzelnen geprüften Fließmitteln Butanol, Dioxan, Methanol, Aceton und Benzol erlaubte keines eine günstige Verteilung aller forensischer Metalle: entweder traten nichtwandernde Ionen auf (meist Blei), andere hatten identische Laufwerte oder stiegen unter Bildung langer Schwänze mit der Fließmittelfront auf (Abb. 2 und 3).

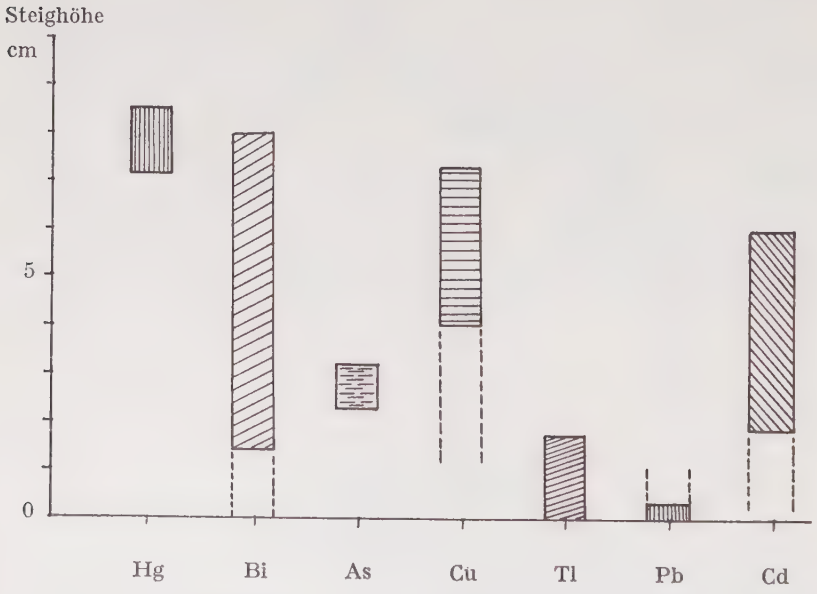

Abbildung 2. Fließmittel: *Dioxan*/Antipyrin
Laufzeit: 40 Minuten

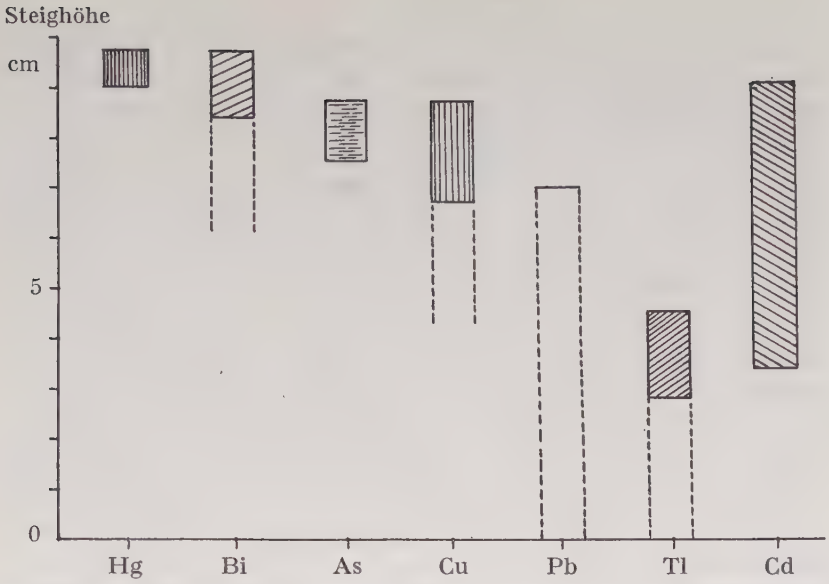

Abbildung 3. Fließmittel: *Aceton*/Sulfosalizylsäure Laufzeit: 30 Minuten

Mit Methanol ergab sich der Nebenbefund einer selektiven Trennung des Thalliums von den übrigen Metallgiften, da außer Thallium (Rf 0,72) alle Ionen praktisch mit der Fließmittelfront wandern (s. Abb. 4).

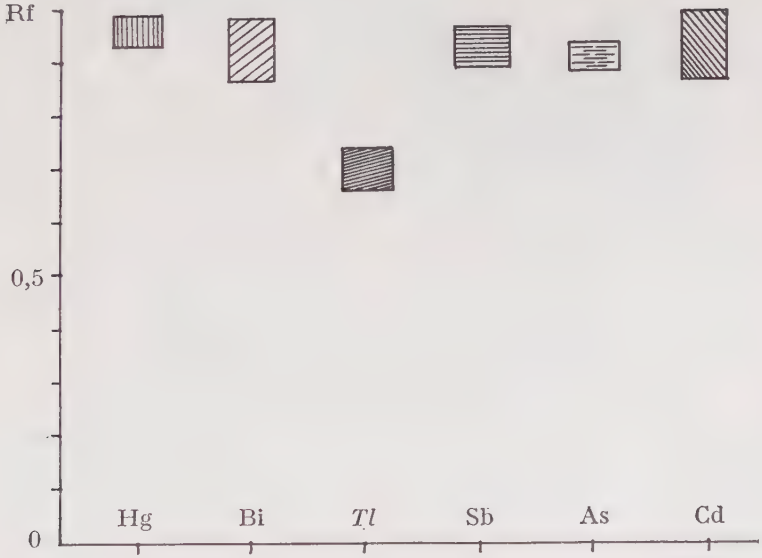

Abbildung 4. Methanol/Acetonylaceton/HNO_3-Gemisch

Gleichmäßig verteilte Steighöhen traten dagegen mit weinsäuregesättigten Aceton-Benzol-Gemischen und Salpetersäure-Zusatz auf. In der folgenden Darstellung (Abb. 5) sind die Rf-Bereiche der einzelnen Metalle als Funktion verschiedener Mischverhältnisse von Aceton und Benzol festgehalten. Der Mineralsäurezusatz beträgt dabei einheitlich 6 ml verdünnte Salpetersäure auf 100 ml Aceton-Benzol. Verdünnte Salpetersäure wurde als Mineralsäurezusatz gewählt, weil die forensischen Metalle nach erfolgter Veraschung des biologischen Ausgangsmaterials als Nitrate vorliegen, Chloride (Seiler) dagegen teils stark schwanzbildend, teils schwerlöslich waren (Bleichlorid z. B.). Der Säuregehalt des Fließmittelsystems beeinflußt die Steighöhe der Ionen ebenfalls. Mit zunehmender Säuresättigung des Lösungsmittelgemisches steigen die Rf-Werte an, allerdings nicht proportional zueinander, so daß die Rf-Werte in ihrer Reihenfolge ändern können.

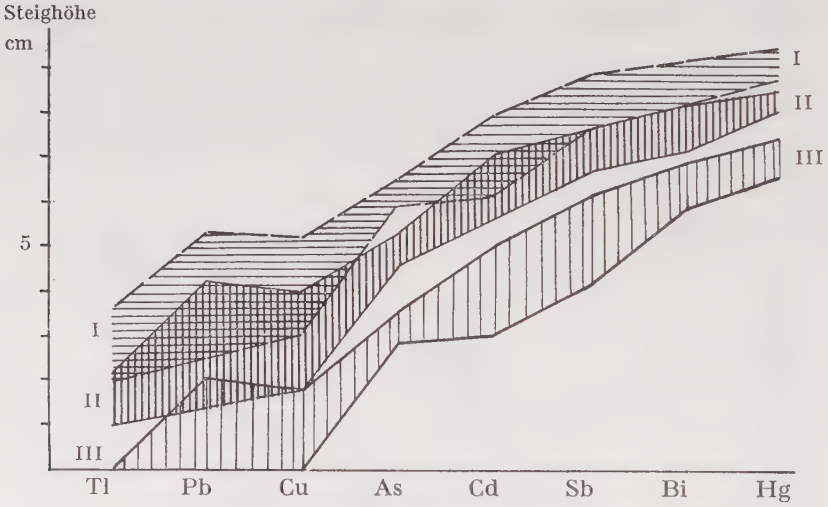

Abbildung 5. Rf-Werte mit Aceton/Benzolgemischen
I Aceton/Benzol *4:1*, Laufzeit: 15 Minuten
II Aceton/Benzol *3:1*, Laufzeit: 20 Minuten
III Aceton/Benzol *3:2*, Laufzeit: 25 Minuten

Die Steighöhen sind auch abhängig von der absoluten Laufstrecke des Lösungsmittelgemischs. Die nachfolgende graphische Darstellung (Abb. 6) illustriert das Verhalten der Rf-Werte bei 10 cm bzw. 15 cm Laufstrecke des Fließmittels unter gleichen Bedingungen.

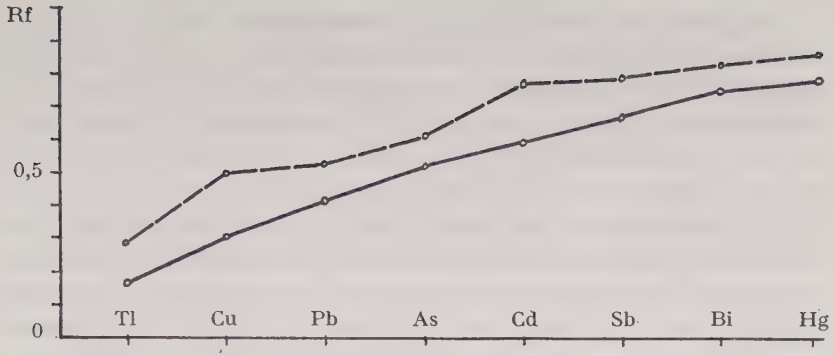

Abbildung 6. Steighöhe und Laufstrecke

——— Laufstrecke 15 cm, Laufzeit: 50 min.
——— Laufstrecke 10 cm, Laufzeit: 25 min.

Für die Qualität der Chromatogramme ist die Sättigung der Trennkammern mit den Lösungsmitteldämpfen Voraussetzung und für gleichbleibende Laufzeiten beim einzelnen Fließmittel der einheitliche Feuchtigkeitsgehalt der stabilen Phase von wesentlicher Bedeutung (s. Methodik).

Das Auftragen der Testsubstanzen am Startpunkt muß möglichst kleine Flecken ergeben. Gute Chromatogramme sind vor allem mit Substanzmengen von 5γ bis 30γ zu erhalten. Hierzu wurden Testlösungen, enthaltend $5\gamma/mm^3$ des Kations, hergestellt mit den Metallsalzen Tl_2SO_4, $HgCl_2$, $CuSO_4+5H_2O$, $Bi(NO_3)_3+5H_2O$, Cd $(C_2H_3O_2)_2+2H_2O$, $Pb(CH_3COO)_2+3H_2O$, $Na_2HAsO_4+7H_2O$ und $SbCl_3$.

In der Dünnschichtchromatographie von Metallsalzgemischen tritt gegenseitige Beeinflussung der Kationen in ihrer Steighöhe auf. Dadurch ist die analytische Trennung eines größeren Ionengemisches erschwert, und auch Seiler gibt deshalb keine festen Rf-Werte an. Beim Cadmium traten zudem sogenannte «Multispots» auf, ein Phänomen, das im Rahmen der anorganisch-chemischen Papierchromatographie schon von Erdem und Erlenmeyer (1954) beschrieben wurde. Von den drei auftretenden Einzelflecken des Cadmiums mit den zugehörigen Rf-Bereichen von 0,7 bzw. 0,5 und 0,3 war aber nur der oberste regelmäßig deutlich, und eine brückenlose Isolierung der «Spots» – am ehesten verschiedenen Komplexformen des Cadmiums entsprechend – konnte nicht erreicht werden.

Bei gleichem Lösungsmittelgemisch kann also nur von einer Konstanz der Folge für die Steighöhenbereiche der forensischen Metalle gesprochen werden. Für das gewählte Fließmittelsystem, weinsäuregesättigtes Aceton/Benzol-Gemisch und 6% verdünnte Salpetersäure, lautet sie:

$$Hg \geqslant Bi > Sb > Cd > As > Pb \geqslant Cu > Tl$$

Da im konkreten Vergiftungsfall nur ein einzelnes oder eine beschränkte Zahl von Metallgiften vorliegen wird, ist für gerichtschemische Zwecke mit der Dünnschichtchromatographie *anhand von Steighöhe und spezifischer Anfärbbarkeit der Kationen eine rasche Orientierung in einem Arbeitsgang* unter Umgehung der bekannten einzelnen mikroanalytischen Verfahren *möglich.*

In der folgenden Darstellung (Abb. 7) sind die Rf-Bereiche der forensisch wichtigen Metalle bei Verwendung des erwähnten Aceton-Benzolgemisches aufgezeichnet.

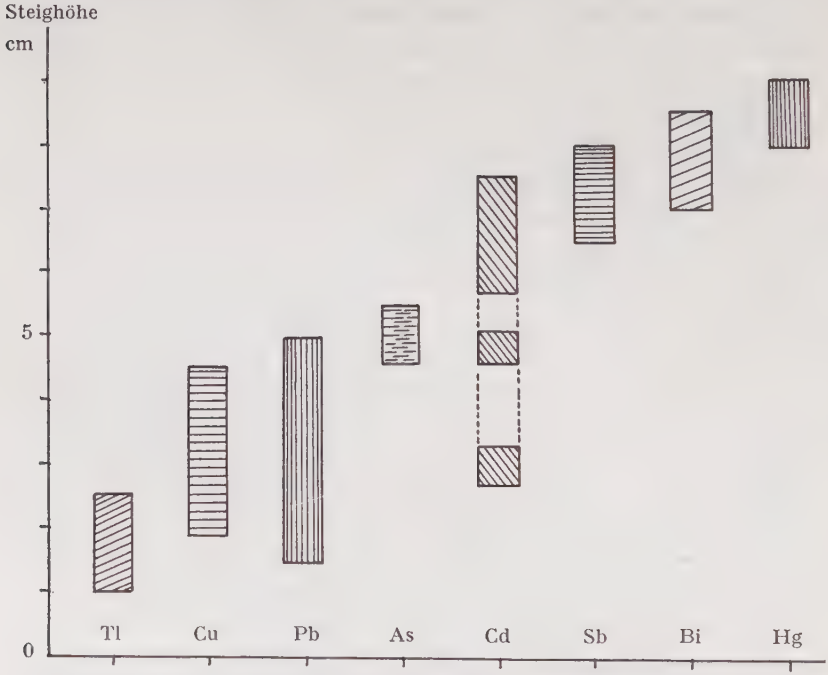

Abbildung 7. Dünnschichtchromatogramm der forensisch wichtigen Metalle

Fließmittelsystem: Aceton/Benzol (75:25) gesättigt mit Weinsäure und 6% verdünnte Salpetersäure
Schichtmaterial: gereinigtes Kieselgel G (Merck)
Laufzeit: 20 Minuten

IV. Sichtbarmachung und Empfindlichkeit der Methode

Der Nachweis der einzelnen Metallionen erfolgt durch Besprühen der lufttrockenen Chromatogramme mit verschiedenen farbgebenden Entwicklerlösungen: mit Dithizonlösung in saurem und alkalischem Bereiche unter Bildung primärer und sekundärer Dithizonate und mit Ammoniumsulfidlösung, wobei die gefärbten Metallsulfide entstehen. Bei biologischem Untersuchungsmaterial kann durch farbige Beimengungen – falls keine Veraschung vorgenommen wird – der Nachweis von Blei und Arsen erschwert sein. Die Identifikation erfolgt mit farbintensiveren Nachweisreaktionen, beim Blei mit Rhodizonsäure (blaue Färbung), beim Arsen mit Kaliumjodidlösung (braune Jodausfällung).

Die Empfindlichkeit der Methode wird durch die verwendete Nachweisreaktion bestimmt. In Verdünnungsreihen ließen sich alle Metallionen noch in Mengen von 2–5γ sicher nachweisen, d.h., die Dünnschichtchromatographie ist gegenüber der Papierchromatographie anorganischer Verbindungen nicht weniger leistungsfähig. Bei den zu langgezogenen Flecken (Schwänzen) neigenden Elementen (z.B. Blei) ist die Nachweisgrenze gegebenermaßen rascher erreicht, als bei denjenigen Kationen, die regelmäßig engumschriebene Farbflecken bilden (Quecksilber, Arsen).

V. Quantitative Auswertung

Eine quantitative Analyse ist in erster Approximation durch Vergleich der Fleckengrößen in Begleitversuchen mit bekanntem Substanzgehalt möglich (s. Kap. VI). Zudem kann durch Wegschaben der Flecke von der Glasplatte das Metallgift auch mikroanalytischen Bestimmungsmethoden zugänglich gemacht werden. (Extraktive Titration mit Dithizon, Spektralphotometrie, Polarographie u.a.)

VI. Anwendung im praktischen Untersuchungsfall

Im folgenden werden einige Beispiele beschrieben, die zeigen, wie nach entsprechender Vorbereitung des Untersuchungsmaterials die Dünnschichtchromatographie zum Nachweis der Schwermetalle verwendet werden kann. Bei der Anwendung der Methode auf biologisches Material einerseits, Lebensmittel oder Gebrauchsgegenstände andererseits, wird eine vorausgehende Mineralisation des Analysenmaterials nur in günstig gelegenen Einzelfällen zu umgehen sein:

Nachweis von Arsen und Cadmium in Tee (Abb. 8)

In einem Modellversuch mit normalgezuckertem Tee unter Zusatz von 2 bzw. 3 mg Arsen und Cadmium in Form gut wasserlöslicher Salze, konnten nach Konzentrierung des Ausgangsvolumens von 50 ml auf 10 ml beide Kationen deutlich nachgewiesen werden. Von dem Konzentrat wurden 20 mm³ und 30 mm³ am Startpunkt des Chromatogramms aufgetragen und ebenso parallellaufende Begleitversuche mit 5γ und 10γ Arsen- bzw. Cadmiumgehalt angesetzt. Es ließ sich durch Vergleich der Fleckengrößen ein Arsen- und Cadmiumgehalt von 3–4γ bzw. 5–6γ/20 mm³ abschätzen und durch Umrechnung die ursprünglich zugegebene Substanzmenge mit einem Fehler von ca. 10 % ermitteln.

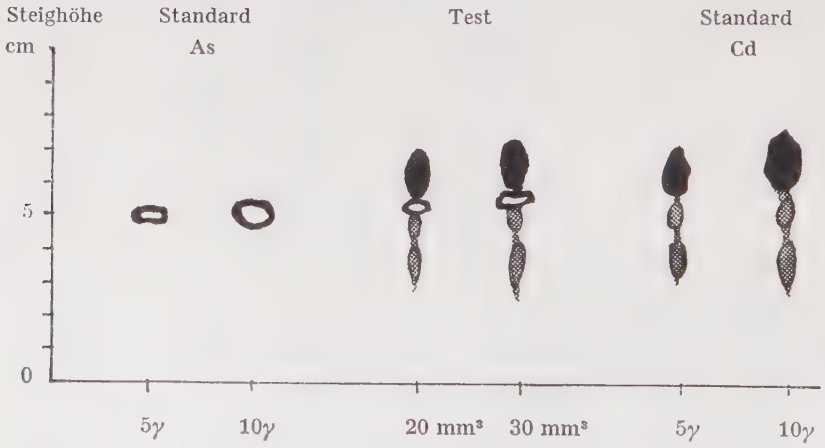

Abbildung 8. Arsen- und Cadmiumnachweis

Nachweis von Arsen in Mehl

In einem weiteren Versuch wurde eine Mehlprobe mit einem Arsenikgehalt von 200γ/g mit verdünnter Salpetersäure versetzt und aus dem Filtrat nach dessen Konzentration auf 1 ml Endlösung der Arsengehalt annähernd quantitativ nachgewiesen.

In der Großzahl der Fälle mißlingt jedoch der direkte Nachweis nach bloßer Konzentration des wässerigen Filtrats, da die forensischen Metalle entweder an Eiweiß gebunden sind (Blut, Urin) oder größere Mengen von Begleitkationen und wasserlösliche organische Substanzen (z. B. Kohlenhydrate) die Chromatogramme stören oder den Nachweis ganz verunmöglichen. Deshalb ist im Allgemeinfall eine feuchte Veraschung vorzunehmen, gefolgt von einer selektiven Anreicherung der Schwermetalle. Dies kann für die meisten forensisch in Betracht fallenden Kationen mit Hilfe des *Di*phenyl*thio*carba*zon*s (Dithizon, Fischer, 1925) geschehen, das mit 18 Schwermetallen pH-abhängige Komplexe bildet und, als Gruppenreagens verwendet, ein extraktives Anreichern ermöglicht (s. VII. Methodik).

Bestimmung von Quecksilber in Urin (Abb. 9)

Bei einem Suicidversuch mit Sublimat erfolgte der Nachweis von Quecksilber aus dem Urin der Pat. H. H. wie folgt: 50 ml Urin wurden mit 5 ml konzentrierter Schwefelsäure und 8 g festem Kaliumpermanganat als Oxydationsmittel versetzt und auf dem Wasserbad unter Rückfluß während einer Stunde erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 20 %iger Hydroxylaminlösung entfärbt und der entstandene Braunstein aufgelöst, anschließend bei saurem pH mit Dithizonlösung im Scheidetrichter erschöpfend extrahiert. Unter Zusatz von Kaliumpermanganatlösung und verdünnter Salpetersäure wurde das Quecksilberdithizonat in der Folge zerstört und die quecksilberhaltige, salpetrige Lösung auf ein Endvolumen von 1 ml im Rotationsverdampfer konzentriert. In 20 mm³ aufgetragener Lösung wurde im Vergleich mit parallellaufenden Standardversuchen eine Quecksilbermenge von ca. 5γ ermittelt und, davon ausgehend, ein Quecksilbergehalt des Urins von 0,5 mg % bestimmt.

Zeitdauer: 3 Stunden.

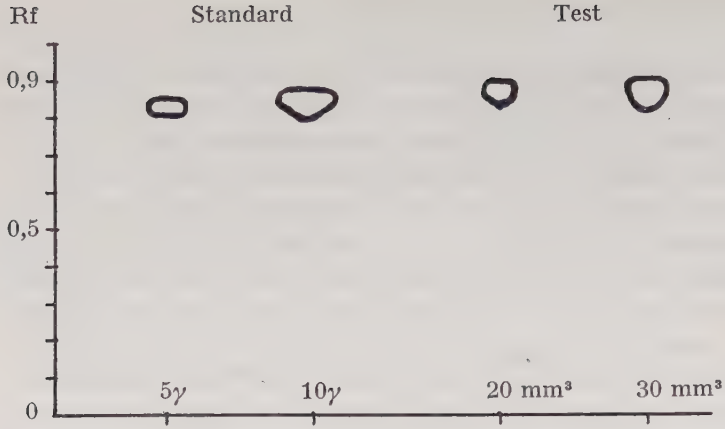

Abbildung 9. Quecksilberbestimmung aus Urin

Die quantitative Mikrobestimmung des Quecksilbers nach der Methode von Stock durch elektrolytische Abscheidung an einem Kupferdraht und anschließende Destillation ergab übereinstimmend einen Quecksilbergehalt von 0,4–0,5 mg %.

Zeitdauer: 12 Stunden.

Entsprechend der mit dem pH wechselnden Affinität der Schwermetallionen zum Dithizon, muß die Extraktion im Allgemeinfall stufenweise erfolgen. In den nachfolgenden beiden Beispielen (Abb. 10) reicherten sich Thallium und Blei in den alkalischen Extraktionsfraktionen an:

Bestimmung von Thallium in Blut (Abb. 10)

Eine Blutprobe von 10 ml wurde mit 150γ Thallium (in Form des Sulfates) versetzt, zentrifugiert und das Blutkörperchensediment verworfen. Die Mineralisation des Plasmas erfolgte mit rauchender Salpetersäure. Nach Aufnahme des ausgeglühten Salzrückstandes in stark verdünnter Salpetersäure wurde mit Ammoniak neutralisiert, mit Natriumacetat auf ein pH von 10 eingestellt und anschließend mit Dithizon mehrmals ausgeschüttelt (optimale Ausbeute beim Thallium um 85 %). Nach der Zerstörung des Dithizonates mit verdünnter Salpetersäure und Konzentration der salpetrigen Lösung auf ein Endvolumen von 0,3 ml konnten in 10 mm³ 3–4γ Thallium nachgewiesen werden, entsprechend einem Thalliumgehalt der Blutprobe von ungefähr 100γ, was einer Ausbeute von annähernd 70 % entspricht.

Bestimmung von Blei in der Leber (Abb. 10)

Zu 10 g gehackter Leber wurden 0,5 mg Blei in Form des Nitrates gegeben, einem Organgehalt entsprechend bei schwerer Bleivergiftung. Der Nachweis gelang nach der Mineralisation mit rauchender Salpetersäure jedoch nicht direkt aus dem Glührückstand wegen des hohen Gehaltes der Leber an übrigen Salzen. Die selektive Anreicherung von Blei mit Dithizon erfolgte bei pH 9 nach Einstellung und Pufferung mit Ammoniak bzw. Citratlösung und führte zur Ermittlung eines Bleigehaltes von ca. 6 mg %. Unter Einrechnung eines Normalbleigehaltes der Leber von ungefähr 2 mg % entspricht dies einer Ausbeute von 85 %.

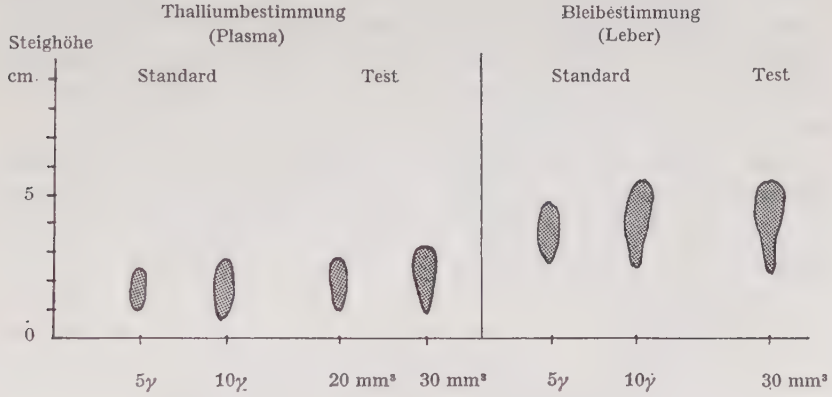

Abbildung 10. Thallium- und Bleibestimmung

VII. Methodik

a) *Reinigung des Kieselgels G (Merck) nach Seiler*

Das zu reinigende Silicagel wird mit der doppelten Menge Salzsäure (conc. HCl/H_2O 1:1) versetzt und 12 Stunden stehen gelassen. Die überstehende, gelbe, eisen- und zinkhaltige Lösung wird soweit möglich dekantiert, der Rest abgenutscht. Ist das Gel nach 3–4maliger Zugabe von destilliertem Wasser und jeweiligem scharfem Nutschen neutralgewaschen (wozu ca. 2 l Wasser benötigt werden), wird es mit Benzol vorgetrocknet und für 1–2 Tage in den Trockenschrank (bei ca. 140 °C) gestellt.

b) *Herstellung der Dünnschichtplatten*

Zu 28 g gereinigtem Silicagel werden, neben 2 g analysenreinem Gips als Bindemittel, 60 ml Wasser gegeben, zu einer homogenen, dünnflüssigen Suspension verrührt, in die Dünnschichtapparatur der Firma Desaga gegossen und rasch über die Glasplatten verteilt. Das obige Quantum reicht für etwa 6 Platten vom Format 20 × 20 cm. Durch anschließendes Trocknen der Platten über Calciumchlorid während 12 Stunden wird der Wassergehalt der stabilen Phase vereinheitlicht.

c) *Auftragen der Testsubstanzen und Entwicklung*

Das Auftragen der Substanzen erfolgt mit Mikropipetten über der Infrarotlampe. Durch fortwährendes Verdunstenlassen kann auch auf diesem Wege eine erhebliche Anreicherung von Ionen stattfinden. Lösungsmengen von 20–30 mm^3 lassen sich auf sehr kleinen Startflecken anbringen.

Die Entwicklungskammern werden etwa 1,5 cm hoch mit Fließmittel gefüllt, allseitig mit Filterpapier ausgekleidet und vor dem Einbringen der Dünnschichtplatten zur Konditionierung mindestens während einer Stunde stehen gelassen.

d) *Sichtbarmachung*

Der Nachweis der einzelnen Kationen erfolgt mit Dithizon (2 mg Diphenylthiocarbazon auf 100 ml Tetrachlorkohlenstoff) und Ammoniumsulfid neben speziellen Nachweisreagentien in ungünstig gelegenen Einzelfällen (vgl. Kap. IV). Die auftretenden Farbreaktionen (Komplexbildungen und Fällungen) sind nachfolgend tabellarisch zusammengefaßt:

Metall	Sprühmittel Dithizon sauer	Dithizon ammoniakalisch	$(NH_4)_2S$
Cu	gelbgrün	graubraun	braun
As	gelb	–	gelb
Cd	lila	orange	gelb
Sb	rötlich	hellbraun	orange
Hg	rosa	orangerot	schwarz
Tl	–	rosa	schwarz
Pb	–	rosa	braun
Bi	purpur	rotorange	braun

e) *Vorbereitung des Untersuchungsmaterials*

(Mineralisation des Ausgangsmaterials und Anreicherung der Schwermetallionen)

Biologisches Ausgangsmaterial wird nach eventueller Vorbehandlung (z. B. Zentrifugieren) mit rauchender Salpetersäure im Kjeldahl-Kolben mineralisiert. Bei Gefahr der Verflüchtigung von Metallen (Quecksilber) wird mit geeigneten Oxydationsmitteln (Kaliumpermanganat z. B.) auf dem Wasserbad unter Rückfluß feucht verascht.

Nach der Mineralisation, einem Vorgang, der die Gesamtanalysenzeit im wesentlichen festlegt, werden die Schwermetalle beim Vorliegen vieler Begleitstoffe selektiv angereichert: mit einer Dithizonlösung (2–5 mg Dithizon in 100 ml Chloroform) wird der Mineralisationsrückstand in sauren und alkalischen pH-Bereichen – unter Verwendung von verdünnter Salpetersäure bzw. Ammoniak und Natriumacetatlösung – im Scheidetrichter längere Zeit geschüttelt. Die Zerstörung der Dithizonkomplexe geschieht mit wenigen ml Salpetersäure und bei säurebeständigen Komplexen mit geeigneten Oxydationsmitteln, beispielsweise Kaliumpermanganat in saurer Lösung. Durch teilweises Eindampfen der salpetrigen Lösung können die als Nitrate vorliegenden Metallionen weiter angereichert werden, bevor das Auftragen auf die Analysenplatten erfolgt.

VIII. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Brauchbarkeit der von Stahl eingeführten Dünnschichtchromatographie für Nachweis, Bestimmung und Trennung der forensisch wichtigen Metalle geprüft, deren Toxizität durch Eintritt in Fermentsysteme bei akuten und chronischen Vergiftungen verschiedenster Art einleitend kurz besprochen wird.

Nach Prüfung verschiedener organischer Lösungsmittel und bekannter Komplexbildner auf ihre Eignung in Fließmittelsystemen, wird mit einem salpetersauren Aceton-Benzol-Gemisch, unter Verwendung von Weinsäure als Komplexbildner,

die Trennung der forensischen Metalle Blei, Quecksilber, Thallium, Arsen, Kupfer, Cadmium, Wismut und Antimon mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie durchgeführt.

Der Nachweis der einzelnen Kationen erfolgt durch die Steighöhen und die spezifische Anfärbbarkeit mit Dithizon und anderen Entwicklerlösungen.

Die Methode erlaubt eine qualitative Analyse auf das fragliche Vorhandensein von Schwermetallionen in einem Arbeitsgang.

Bei biologischem und anderem Ausgangsmaterial wird die Analysenzeit durch die auch hier nur ausnahmsweise zu umgehende Mineralisation und anschließende Anreicherungsverfahren bestimmt, während die Entwicklung des Chromatogramms nur 20 Minuten benötigt.

Die quantitative Verwertung wird im Chromatogramm durch Vergleich der Fleckengrößen mit Begleitversuchen von bekanntem Metallgehalt angestrebt.

In praktischen Beispielen wird Dithizon als Gruppenreagens zur extraktiven Anreicherung der forensischen Schwermetallionen verwendet und nach Zerstörung des Metall-Dithizonats die salpetrige Kationenlösung auf ein möglichst kleines Endvolumen konzentriert vor dem Auftragen auf die Dünnschichtplatten.

IX. Literatur

Bessman S.P., H. Ried und M. Rubin: Tetracemin, Med. Ann. Distr. Columbia *21*, 312 (1952).

Cramer F.: Papierchromatographie, Verlag Chemie, Weinheim.

Ehrlich P.: Arsenobenzole, Ber. dtsch. chem. Ges. *42*, 17 (1909).

Erdem B., H. Erlenmeyer: Über das Verhalten von komplexen Ionen bei der Papierchromatographie, Helv. chim. acta *XXXVII*, 2220 (1954).

Fischer H.: Die Metallverbindungen des Diphenylthiocarbazons und ihre Verwendbarkeit für die chemische Analyse, Wiss. Veröff. Siemens-Werken *4*, 158 (1925).

Iwantscheff G.: Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikro- und Spurenanalyse, Verlag Chemie, Weinheim (1958).

Peters R.A., Stocken und R.H. Thompson: Dimerkaprol, Nature *156*, 616 (1945).

Pfeil E., G. Ploss und H. Saran: Trennung der Schwefelwasserstoffgruppe mit Hilfe der Papierchromatographie, Fres. Z. f. analyt. Chem. *146*, 241 (1955).

Pfeil E., H.J. Goldbach: Nachweis und quantitative Bestimmung der forensisch wichtigen Metalle mit Hilfe der Papierchromatographie, Arch. f. Toxikologie *16*, 134 (1956).

Seiler H. und M.: Anorganische Dünnschichtchromatographie, Helv. chim. acta *XLIII*, 1939 (1960).

Stahl E.: Dünnschichtchromatographie, Pharm. *11*, 633 (1956), Chem.-Ztg. *82*, 323 (1958), Arch. d. Pharmaz. *292*, 411 (1959).

Voegtlin C., H.A. Dyer und C.S. Leonard: Arsphenamin, Publ. Health. Report (USA), *38*, 1882 (1923).

Weinig E., G. Neugebauer und I. Neugebauer: Polarographische Bleibestimmung in Blut und Harn, Arch. f. Hyg. u. Bakt. *139*, 351 (1955).